

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 5 6 0 号	学位授与年月日	平成 22 年 3 月 15 日
氏 名	中 西 啓		
論文題目	Identification of 11 novel mutations in <i>USH2A</i> among Japanese patients with Usher syndrome type 2 (日本人アッシャー症候群タイプ 2 患者の <i>USH2A</i> 遺伝子における 11 種の新規遺伝子変異の同定)		

博士(医学) 中 西 啓

論文題目

Identification of 11 novel mutations in *USH2A* among Japanese patients with Usher syndrome type 2
(日本人アッシャー症候群タイプ 2 患者の *USH2A* 遺伝子における 11 種の新規遺伝子変異の同定)

論文の内容の要旨

[はじめに]

アッシャー症候群 (USH) は、網膜色素変性症に難聴を合併する常染色体劣性遺伝性疾患である。USH は、難聴の程度と前庭機能障害の有無などの臨床症状により、タイプ 1~3 の 3 つのタイプに分類されている。

タイプ 2 は、3 つのタイプの中で最も頻度が高く、網膜色素変性症に中等度〜高度難聴を合併し前庭機能障害を認めないことが特徴である。現在までに、タイプ 2 の原因遺伝子として、*USH2A*、*USH2C* (*GPR98*)、*USH2D* (*DFNB31*) が同定されているが、欧米等の症例では *USH2A* 変異がタイプ 2 患者の 74~90% に認められ最も頻度が高いことが報告されている。

欧米で行われた *USH2A* 遺伝子解析では、1 種の欠失変異 p.Glu767fs (c.2299delG) が複数の患者で同定され、創始者効果による高頻度変異であると考えられている。一方、本邦症例では *USH* 遺伝子解析の報告が全くなく、原因遺伝子の頻度、高頻度変異の有無等に関して不明である。これらの点を明らかにするために、本邦で初めてタイプ 2 患者を対象として *USH2A* 遺伝子解析を行った。

[患者ならびに方法]

1. *USH2A* 遺伝子解析

臨床症状よりタイプ 2 と診断した日本人患者 10 人を対象として遺伝子解析を行った。末梢血よりゲノム DNA を抽出し、*USH2A* の全エキソン 1~73 を PCR ダイレクトシーケンス法にて解析した。現在までに世界で報告されていない塩基変化については、視覚障害や難聴を認めない日本人正常対照群 135 人の検体を用いて、当該塩基変化の存否の解析を行った。

2. 患者の臨床症状

眼科的検査および耳鼻科的検査を行い、網膜色素変性症、難聴、前庭機能障害の有無について評価した。また、*USH2A* 遺伝子変異例では、難聴は進行しないことが多いと報告されているため、過去 5 年以上に渡って経過を追跡できた患者では、聴力悪化の有無についても評価した。

[結果]

1. *USH2A* 遺伝子解析

10 人の患者において *USH2A* の遺伝子解析を行い、8 人の患者で 14 種の疾患原因と考えられる変異を同定した。変異の内訳は、ナンセンス変異 1 種、欠失変異 4 種、スプライシング変異 2 種、ミスセンス変異 7 種であり、11 種は現在までに報告されていない新規の変異であった。これらの変異は、エキソン 3~64 に広範囲に分布しており、明らかな変異ホットスポットは認められなかった。しかし、1 種のスプライシング変異 c.8559-2A>G は 4 人の患者において同定され、日本人のタイプ 2 患者における高頻度変異と考えられた。疾患原因変異は、いずれも日本人正常対照群では全く認

められなかった。

2. 患者の臨床症状

疾患原因変異を同定することができた 8 人の患者は、網膜色素変性症に中等度～高度感音難聴を合併していた。網膜色素変性症は、年齢とともに症状が悪化する傾向を示していたが、患者 C237 は年齢に比較して視野狭窄が極めて高度であった。難聴の進行について評価することができた 5 人の患者の中で、患者 C152 は右耳に軽度の進行を、患者 C237 は両耳に高度の進行を認めた。前庭機能は、全患者において正常であった。

[考察]

1. *USH2A* 遺伝子解析

10 人中 8 人の患者において *USH2A* に疾患原因変異を同定した。このことより、日本人においても欧米人と同様に、*USH2A* 遺伝子変異によりタイプ 2 を発症する患者が多いと考えられた。しかし、14 種の変異の中で 11 種は新規であり、欧米人における高頻度変異である p.Glu767fs が 1 人にも認められなかったことは、日本人と欧米人では変異スペクトラムが全く異なることを示唆していると思われた。

スプライシング変異 c.8559-2A>G は、10 人中 4 人の患者において同定され、日本人のタイプ 2 患者における高頻度変異である可能性が高い。本変異に重点をおいて解析することにより、効率的にタイプ 2 患者の遺伝子診断を行うことが可能であると思われた。

2. 患者の臨床症状

患者 C237 は、高度の視野狭窄に加えて、高度の聴力悪化を認め、非典型的臨床症状を示す *USH2A* 遺伝子変異例であった。本症例では、環境因子や修飾遺伝子の変異が臨床症状に影響を与えている可能性が高い。

[結論]

日本人においても欧米人と同様に、*USH2A* 遺伝子変異によりタイプ 2 を発症する患者が多かった。しかし、日本人と欧米人では、*USH2A* の変異スペクトラムが全く異なっていた。スプライシング変異 c.8559-2A>G は日本人タイプ 2 患者における高頻度変異である可能性が高く、遺伝子診断に有効である。

論文審査の結果の要旨

網膜色素変性症に難聴を伴うアッシャー症候群 (USH) は常染色体劣性に遺伝することが知られ、聴力や前庭機能から 3 つの亜型に分類されている。このうちタイプ 2 は前庭機能障害を認めないことを特徴とする、最も頻度の高い中心的病型であり、usherin をコードする *USH2A* の変異が欧米例の 74 ~ 90% に認められる。その他に *USH2C*、*USH2D* などの変異が報告されているが、本邦例では未だ解析がされていない。

申請者はわが国におけるアッシャー症候群の症例についての遺伝子解析を行い、新たな遺伝子変異の有無や欧米報告例との比較を行った。

対象は眼科的および耳鼻科的検査により網膜色素変性症、難聴、前庭機能障害を評価しアッシャー症候群のタイプ 2 と臨床診断された日本人患者 10 人である。末梢血よりゲノム DNA を抽出

し、USH2A の全エクソン 1 ～ 73 につき PCR ダイレクトシーケンスを行い、視覚障害や難聴を認めない日本人 135 人を対照群として検討した。

遺伝子解析により 8 人の患者でナンセンス変異 1 種、欠失変異 4 種、スプライシング変異 2 種、ミスセンス変異 7 種の計 14 種の疾患原因と考えられる変異が認められた。このうち 11 種は現在までに報告のない新規変異であった。変異はエクソン 3 ～ 64 に広範に分布し、明らかなホットスポットは見られなかったが、対照群では全く認められなかった。スプライシング変異 c.8559-2A>G は 4 人に見られ日本人患者の高頻度変異の可能性が考えられた。

疾患原因変異を同定することのできた 8 人の患者は中等度～高度の感音性難聴を合併したが、前庭機能は正常であった。網膜色素変性症は年齢とともに悪化する傾向を示した。1 例で高度の視野狭窄と聴力の悪化を示し、他の修飾因子の関与も考えられた。

審査委員会では聴力や視力に障害を呈する遺伝性疾患であるアッシャー症候群のうち、特に臨床上重要なタイプ 2 の本邦例について初めて遺伝子解析を行い、我が国の症例の遺伝子的特質と新規の変異の存在を明らかにしたことを高く評価した。

論文審査担当者	主査	大関 武彦		
	副査	前川 真人	副査	佐藤 美保